Beiträge zur Kenntniss

der

Entstehung einiger Milchbestandtheile.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medicinischen Doctorwürde

der

medicinischen Facultät

der

Universität Rostock

vorgelegt

von

Hans Thierfelder.

Rostock.

Universitäts-Buchdruckerei von Adler's Erben.

1883.

Ueber die Fragen, wo und woraus entsteht die Milch, ist es trotz vielfacher Untersuchungen nicht möglich, eine nach allen Seiten befriedigende Antwort zu geben.

Für Milchzucker und Caseïn kann man leicht den Ort ihrer Bildung bestimmen: beide finden sich nur in der Milch, sie können also nicht durch das Blut zugeführt werden. Nicht so einfach ist es mit dem Fett. Die Angabe, dass in der Milch Fette vorkommen, deren Säuren im Körper nicht existiren, ist von Heintz[1]) nicht bestätigt. Dass jedenfalls nicht alles Fett in der Milchdrüse entstehen muss, dafür spricht die von Einigen angegebene Thatsache, dass von dem Thier in der Nahrung aufgenommene fremde Fette in der Milch erscheinen. Wenn nun auch wenigstens für Milchzucker und Caseïn eine Infiltration aus dem Blute unmöglich ist, so fragt es sich weiter, ob die Bildung in den Drüsenzellen stattfindet, oder erst im Sekrete.

Für die Hauptmasse des Fettes ist jedenfalls eine Bildung erst im Sekrete ausgeschlossen. Dafür spricht die mikroskopische Untersuchung; aber auch für das Caseïn ist sie unwahrscheinlich, denn andernfalls wäre zu erwarten, dass wenigstens in dem Theile der Milch, der beim Melken die Drüse zuletzt verlässt, also in dem jüngsten Sekret der Zellen, noch ein Theil der Muttersubstanz vorhanden sei und auch ausserhalb des Körpers unter günstigen Bedingungen in Caseïn umgewandelt

werden könne. Die bezüglichen Versuche von Schmidt-Mülheim[2]), auf die ich noch zu sprechen komme, ergeben indess, dass die Digestion auch in der zuletzt entleerten Milch keine Neubildung von Caseïn bewirkt. Für den Milchzucker liegen keine verwerthbaren Angaben vor.

Ueber die Frage nach der Herkunft der einzelnen Milchbestandtheile hat man durch Fütterungs-Versuche, durch Beobachtung des Einflusses der mit der Nahrung eingeführten Stoffe auf die Zusammensetzung der Milch, Aufschluss zu erhalten gehofft. Es liegen aus älterer und neuerer Zeit eine Menge von solchen Untersuchungen vor; als Versuchsthiere sind in den meisten Fällen Pflanzenfresser benutzt: diese eignen sich indessen nicht wegen ihres zusammengesetzten Futters, das man wohl an einigen Bestandtheilen reicher, an anderen ärmer machen kann, dem man aber, ohne den Gesundheitszustand des Thieres zu beeinträchtigen, nicht entweder Eiweiss oder Fett oder Kohlehydrate ganz entziehen darf. Die gewonnenen Resultate sind wohl im Stande, Winke für eine rationelle Futterzusammensetzung zu geben, nicht aber unsere Frage wesentlich zu fördern. Was nun die an Fleischfressern gemachten Versuche betrifft, so sind zunächst zwei sich widersprechende Angaben aus früherer Zeit zu erwähnen: Dumas[3]) konnte in der Milch der Hündin nur dann Milchzucker nachweisen, wenn Amylaceen gefüttert waren; Bensch[4]) giebt an, in der Milch einer Hündin, die 27 Tage ausschliesslich mit Fleisch genährt war, Milchzucker gefunden zu haben. Der Erste, der zusammenhängende Mittheilungen über Fütterungs-Versuche mit einem Fleischfresser machte, war Ssubotin[5]). Aus ihnen geht hervor, dass beim Hunde länger (8 Tage) anhaltende Fleischfütterung die Milch vermehrt, dagegen eine Kost von Vegetabilien (4 Tage) und Fett (2 Tage) sie vermindert, ja zum Versiegen bringt. Dabei ist bei Fleischnahrung der Prozentgehalt an Fett und Caseïn grösser, an Milchzucker nur unbedeutend geringer, als bei vegeta-

bilischer. Fettnahrung macht die Milch prozentisch ärmer an Milchzucker, an Fett und Eiweiss reicher. In Uebereinstimmung damit fand Kemmerich[6]) in der Hundemilch bei reiner Fleischkost einen hohen Fettgehalt und eine kaum nennenswerthe Abnahme des Milchzuckers, auch dann nicht, wenn er von Kohlehydraten befreites Fleisch gegeben hatte. Die Versuche von Voit[7]), ebenfalls an Hunden angestellt, scheinen mir des allzu schnellen Wechsels der Nahrung wegen nicht beweisend.

Aus diesen Versuchen geht für die Frage nach der Herkunft der Milchbestandtheile hervor, dass Caseïn, Fett und Milchzucker aus dem Eiweiss der Nahrung entstehen kann. Das ist ein wichtiges, aber auch das einzige sichere Ergebniss. Ob und inwieweit Fett und Kohlehydrate sich an der Bildung regelmässig betheiligen, ist aus den vorliegenden Angaben nicht ersichtlich, aber, wenigstens bei der enormen Milchbildung einzelner Pflanzenfresser, höchst wahrscheinlich und speciell für das Fett bewiesen durch einen Versuch von Voit[8]), wonach die in 6 Tagen von einer Kuh in der Milch gelieferte Fettmenge die aus dem zersetzten Eiweiss berechnete überstieg. Auch der schon erwähnte Nachweis fremder in der Nahrung enthaltener Fette in der Milch spricht dafür, dass Fett der Milch aus Nahrungsfett stammen kann.

Ausserdem finden sich in der Literatur noch eine Reihe von Angaben, die aber alle nur wenig im Stande sind, zur Lösung unserer Frage beizutragen. Am meisten Aufsehen in dieser Beziehung haben die beiden schon so oft citirten Angaben von Hoppe-Seyler[9]) und von Kemmerich[10]) gemacht. Hoppe-Seyler beobachtete, dass beim Stehen der Milch an der Luft unter Einwirkung von Sauerstoff sich allmählich, höchstwahrscheinlich unter Zersetzung von Caseïn, etwas Fett bildet unter Austreten von Kohlensäure. Ssubotin[11]) und Kemmerich[12]) konnten das Faktum bestätigen; letzterer hielt den Vorgang indessen nicht für einen physiologischen, sondern

für einen durch Bakterien bedingten u. z. deshalb, weil in der gekochten Milch eine Fettbildung nicht mehr einträte. Gegen die Richtigkeit dieser Schlussfolgerung ist schon von Hoppe-Seyler[13]) selbst Einsprache erhoben: durch das Erhitzen werden nicht allein Organismen getödtet, sondern auch manche andere Veränderungen hervorgerufen, die ihrerseits der Fettbildung hinderlich sein können. Die Sache bleibt also noch zweifelhaft. Kemmerich[10]) gab an, dass beim Digeriren der Milch bei Körpertemperatur Caseïn auf Kosten des Albumin sich bilde. Er schloss dies daraus, dass in der digerirten Milch sich mehr Caseïn und weniger Albumin fände, als in der frisch analysirten, und dass in der von allem Caseïn befreiten Milch sich während des Stehens bei Körpertemperatur wieder nachweisbare Mengen bildeten. Die Versuche waren mit der Milch der Ziege und der Kuh und dem Colostrum der Kuh und des Weibes angestellt u. z. immer mit der dem Euter zuletzt entzogenen Portion des Drüsensekretes. Ein Zusatz von Serumalbumin zu der Milch (Hundeblutserum zu Kuhmilch) hatte keinen Einfluss auf die Menge des gebildeten Caseïns, ebenso nahm diese nicht zu mit der Länge der Digestionszeit, sondern, nachdem sie ihren Höhepunkt erreicht hatte, wieder ab. Kemmerich hält den Vorgang für einen physiologischen u. z. deshalb, weil die letzte Portion der Milch, also das jüngste Drüsensekret, die Erscheinung am exquisitesten zeige, weil die Bildung eine begrenzte sei, weil die Körpertemperatur einen besonders günstigen Einfluss übe. Er glaubt, dass es sich um eine fermentative Spaltung des Albumins handele. Eine Isolirung des Fermentes, die er durch Schütteln der Milch mit Blutkohle versuchte, gelang nicht.

Diese Angaben von Kemmerich, die auch von Zahn[14]), der mit Magnesiamolken arbeitete, bestätigt wurden, sind in neuester Zeit durch mehrfache Arbeiten von Schmidt-Mülheim[15]) vollständig widerlegt. Nach-

dem darauf hingewiesen (was auch schon von Kirchner[16]) geschehen war), dass in den Versuchen Kemmerich's keine auch nur einigermassen befriedigende Uebereinstimmung zwischen Albuminabnahme und Caseïnzunahme zu finden sei, führt er seine eigenen Versuche an, die an Genauigkeit der Methode nichts zu wünschen übrig lassen und sich vor denen Kemmerich's besonders dadurch auszeichnen, dass stets eine Doppelbestimmung gemacht ist. Sie sind sämmtlich mit Kuhmilch angestellt. Aus ihnen ergibt sich, dass durch die Digestion der Albumingehalt nicht geändert wird, das Caseïn aber stets abnimmt, u. z. proportional der Dauer des Digerirens; ferner dass die letzte Milch sogar eine weit stärkere Caseïneinbusse erleidet als die zuerst gewonnene. Was die von Kemmerich beobachtete Caseïnbildung in der von Caseïn befreiten Milch betrifft, so fand Schmidt-Mülheim dieselbe Erscheinung auch bei einer Milch, die nach ihrer Entleerung aus der Drüse längere Zeit der Einwirkung der Körpertemperatur ausgesetzt war. Daraus zog er den Schluss, dass geringe Mengen von Caseïn bei der angewandten Fällungsmethode in Lösung bleiben und erst durch länger einwirkende höhere Temperatur zur Ausscheidung gebracht werden. Entsprechend der Abnahme des Caseïn konnte Schmidt-Mülheim stets eine Vermehrung des schon in frischer Milch vorhandenen Peptongehaltes konstatiren; freilich zeigte sich die Peptonzunahme stets merklich geringer als die Caseïnabnahme. Schmidt-Mülheim glaubt, dass ein Theil des Caseïn durch einen fermentativen Umwandlungsprozess während des Digerirens in Pepton verwandelt wird; über das Schicksal des übrigen vermag er nichts auszusagen.

Kurze Zeit nach und im Anschluss an die Kemmerich'schen Untersuchungen erschien eine Arbeit von Dähnhardt[17]). In der Annahme, dass die Angaben Kemmerich's richtig seien, bemühte er sich, aus der Milchdrüse des Meerschweinchens durch Behandlung der-

selben mit Glycerin und Alkohol ein Ferment darzustellen, das Albumin in Caseïn verwandele; und in der That gelang es ihm, wenn er den so erhaltenen Körper oder den Glycerinauszug oder auch die Milchdrüse selbst 18 Stunden mit verdünnter Hühnereiweisslösung und einigen Tropfen einer 10 % Lösung von kohlensaurem Natron digerirte, einen Körper zu erhalten, der sich wie Caseïn verhielt, während bei der Digestion von Eiweisslösung mit der Lösung von kohlensaurem Natron keine caseïnartige Substanz sich bildete. Auf diese Arbeit werde ich später noch zurückkommen. Ueber die Kohlehydrate der Milch existiren noch weniger Angaben. Ritthausen[18]) berichtet, dass man in der Milch geringe Mengen eines von dem Milchzucker verschiedenen, dem Dextrin ähnlichen Kohlehydrats nachweisen könne. O. Nasse[19]) fand in einer wässerigen Abkochung der Kaninchenmilchdrüse keinen Stoff, der durch Ptyalin in Zucker verwandelt wurde. Schliesslich ist eine kurze Notiz von Paul Bert[20]) zu erwähnen, worin er mittheilt, dass Schützenberger aus wässerigen Abkochungen von Kuhmilchdrüsen einen Körper extrahirt habe, der nach Behandlung mit kochendem Wasser und Schwefelsäure, aber auch wenn er einige Zeit sich selbst überlassen blieb, Kupferoxyd reducirte. Indessen ist nicht erwähnt, ob der erhaltene Körper ganz milchzuckerfrei war. Dadurch verlieren die Angaben natürlich jeden Werth. Weitere Mittheilungen Schützenberger's, die in Aussicht gestellt wurden, sind bis jetzt nicht erschienen.

Man sieht aus diesem kurzen Referat, wie unvollkommen unsere Kenntnisse über die Bildung der Milch sind. Ich glaube nicht, dass man durch weitere Fütterungsversuche der Sache wesentlich näher kommen wird; vielmehr scheint mir der zuerst von Kemmerich betretene Weg der richtige und mit grösserer Wahrscheinlichkeit zum Ziele führende zu sein: man muss die Milch und die Milchdrüse selbst nach etwaigen Fermenten und

Muttersubstanzen durchforschen und so rückläufig den Prozess der Milchbildung verfolgen.

Im Folgenden werde ich von Versuchen berichten, die ich in dieser Richtung speciell über das Caseïn und den Milchzucker im Laboratorium des hiesigen Instituts für Pharmakologie und physiologische Chemie angestellt habe. Es ist mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle Herrn Professor Nasse, durch dessen Rath und stetige Unterstützung mir die Durchführung der Arbeit allein ermöglicht wurde, zu danken.

Die Untersuchungen über den Milchzucker sind zahlreicher und ausführlicher: sie mögen deshalb zuerst besprochen werden. Vorausschicken will ich einige Worte, die sich auf die Technik beziehen. Zur Bestimmung des Zuckers wurde das Verfahren benutzt, das zuerst von Brücke [21]) für den Harn angegeben, später von O. Nasse [22]) modificirt ist. Es beruht auch auf der Fähigkeit des Zuckers, Kupferoxyd zu reduciren und besteht wesentlich darin, Mischungen der zu titrirenden Flüssigkeit mit Kupfersulfat anzufertigen und dieselben nach dem Ausfall des Kochens mit Natronlauge so lange zu ändern, bis man das Verhältniss trifft, bei dem noch gerade Entfärbung eintritt; von den Mischungen aber stets nur kleine Mengen (wenige ccm) zu kochen. Der zuerst von Nasse [23]), später aufs Neue von Pavy [24]) empfohlene Zusatz einiger Tropfen Ammoniak wurde angewandt, sobald es nöthig war, d. h. sobald sich Kupferoxydul beim Kochen ausschied. Dies trat indessen selten ein, da jedenfalls in der Flüssigkeit schon Stoffe vorhanden waren oder während des Kochens sich bildeten, die dasselbe in Lösung erhielten. Dagegen machte ich bald die auch schon von Anderen mitgetheilte Beobachtung, dass die Menge der zugesetzten Natronlauge von Einfluss war in der Weise, dass z. B. bei Zusatz eines ccm schon Entfärbung eintrat,

während bei Zufügung der Hälfte eine vollständig gleiche Probe blau blieb. Diese Beobachtung liess mich in Zukunft die Vorsicht anwenden, während Eines Versuches das Verhältniss zwischen Kupferlösung und Natronlauge in den einzelnen Kochproben dasselbe sein zu lassen. Wenn trotz dieses allerdings umständlichen und zeitraubenden, aber im Uebrigen vorzüglichen Verfahrens die Schwierigkeit die genaue Grenze zu bestimmen oft sehr gross war, so lag dies an der zu prüfenden Flüssigkeit selbst. Es war zum Theil nicht möglich, sie ganz klar zu erhalten: mehr oder weniger Fett war durch das Filter gegangen. Ausserdem enthielten sie in Folge der Behandlung, der sie hatten ausgesetzt werden müssen, Leim und Pepton, Bestandtheile, die die Genauigkeit der Beobachtung in hohem Grade erschweren müssen, zumal wenn man bedenkt, dass die Reduktion durch Milchzucker ein viel längeres und intensiveres Kochen erfordert, als die durch Traubenzucker.

Die Kupferlösung, die ich benutzte, enthielt 1,1 % Kupfersulfat.

Um Zufälligkeiten möglichst auszuschliessen, wurde stets ein Doppelversuch gemacht.

Es kam mir zunächst darauf an, festzustellen, ob in der entleerten Milch, wenn sie unter günstige Bedingungen gebracht wird, noch eine Milchzuckerbildung vor sich geht. Es sind die diesbezüglichen Versuche also analog denen von Kemmerich und von Schmidt-Mülheim über das Caseïn. Ich benutzte Kuhmilch, und zwar das bei einer Melkung zuletzt erhaltene Sekret, das ich direkt aus dem Euter in ein mit Eisstückchen umgebenes Gefäss auffangen liess. Zwei gleich grosse Mengen (20 ccm) dieser Milch wurden, die eine sofort, die andere, nachdem sie mehrere Stunden im Wasserbad von 40° C. in mit Wattepfröpfen gut verschlossenen Kölbchen digerirt war, in gewogenen Bechergläsern mit 400 ccm Wasser verdünnt. Nachdem dann die Eiweisskörper durch ver-

dünnte Essigsäure und folgendes Einleiten von Kohlensäure und endlich durch Erhitzen der Flüssigkeit sämmtlich gefällt waren, wurde die Gesammtmenge wieder gewogen und nach dem Erkalten filtrirt. In den klaren Filtraten bestimmte ich nun das Reduktionsvermögen.

Die angeführten Zahlen bezeichnen in diesen und den folgenden Versuchen die ccm Kupferlösung, die durch die Gesammtmenge der angewandten Substanzen reducirt werden.

Versuche I und II.

I. Kuh.	Reduktions-Vermögen der Milch.		II. Kuh.	Reduktions-Vermögen der Milch.	
	Frisch untersucht	10 h. digerirt		Frisch untersucht	9 h. digerirt
1. Bestimmung	281	289	1. Bestimmung	305	306
2. Bestimmung	265	273	2. Bestimmung	307	289
Mittel	**273**	**281**	Mittel	**306**	**298**

Die erhaltenen Zahlen sprechen dafür, dass der Milchzuckergehalt der Milch durch die Digestion keine Veränderung erleidet. Der Grund dieses negativen Resultates kann ein dreifacher sein: Es kann in der Milch fehlen entweder ein Ferment, das im Stande ist eine Neubildung von Milchzucker zu bewirken, oder eine Muttersubstanz, aus der durch das Ferment Milchzucker gebildet werden kann, oder Ferment und Muttersubstanz. Einer Darstellung des Fermentes aus der Milchdrüse standen jedenfalls die grössten Schwierigkeiten entgegen; vielleicht gelang es leichter, aus der Drüse eine Substanz zu gewinnen, die durch das in der Milch möglicherweise vorhandene Ferment in Milchzucker übergeführt würde. Kocht man frische, zerkleinerte Leber mit Wasser, so geht bekanntlich Glykogen in das Dekokt über. Es schien der Mühe werth, zu versuchen, ob die Muttersubstanz des Milchzuckers sich ähnlich verhielte. Auch zu diesem Versuch benutzte ich die Kuhmilchdrüse. Da es sehr darauf ankommen

musste, das Organ so frisch als möglich in Behandlung zu nehmen, wurde das Dekokt gleich in dem Schlachthaus gemacht und dabei mit möglichster Schnelligkeit verfahren. Die Kuh hatte bis zuletzt Milch gegeben. Die Bereitung geschah in der bekannten Weise: Zerkleinerung der Drüse mit Messer und Fleischhackmaschine, Aufkochen mit Wasser, Zerreiben und Zerstossen der Drüsensubstanz mit Sand, halbstündiges Kochen unter tropfenweisem Zusatz verdünnter Essigsäure, Koliren und Filtriren. Der Versuch (III) wurde in der Weise ausgeführt, dass 2 Portionen Kuhmilch (je 20 ccm) bei Körpertemperatur digerirt wurden. Während aber der einen von dem Dekokt schon vor der Digestion zugefügt wurde (20 ccm), erhielt die andere ihren Zusatz erst nachher. Im Uebrigen war dieser Versuch den früheren gleich. Er entsprach demjenigen von Kemmerich, in dem der zu digerirenden Milch Blutserum zugefügt wurde, damit sich aus ihm Caseïn bilde; nur wandte ich die Vorsicht an, die Milch derselben Thierart zu benutzen, aus deren Euter ich auch das Dekokt darstellte, während Kemmerich zu Kuhmilch Hundeblutserum fügte. Durch Transfusionsversuche weiss man, dass Gewebe verschiedener Thiere sich nicht mit einander vertragen.

Versuch III.

III. Kuh.	Reduktions-Vermögen d. Milch u. d. Milchdrüsendekokts.	
	$6^1/_2$ h. getrennt digerirt	$6^1/_2$ h. zusammen digerirt
1. Bestimmung	339	335
2. Bestimmung	351	337
Mittel	**345**	**336**

Auf diese Weise war also kein Aufschluss zu erhalten. Man musste sich an die Drüse selbst wenden. Es lag am nächsten, einen wässerigen Auszug aus der Milchdrüse eines säugenden Thieres zu machen, und mit diesem, einem „Milchdrüsenextrakte“, Digestionsversuche anzu-

stellen. Zu diesem Zwecke wurde die Drüse des gut mit 0,6 % Kochsalzlösung ausgewaschenen Thieres nach dem Herauspräpariren in einer eiskalt gehaltenen Reibschale möglichst fein zerschnitten und mit verdünnter Kochsalzlösung zerrieben, dann durch ein feinmaschiges Tuch kolirt. Zu diesen Versuchen (IV und V) benutzte ich Kaninchen- und Hundemilchdrüsen. Ehe ich ihre Ausführung beschreibe, muss ich die Besprechung einer Frage einschieben, die sich mir bereits bei dem letzten Versuche aufdrängte: Konnte man die Drüse zu dem Versuche gewissermassen vorbereiten? War es günstiger, die Jungen bis zuletzt saugen zu lassen oder sie kürzere oder längere Zeit vor dem Versuche abzusperren? Man konnte sich denken, dass mit einer Stauung der Milch in den Gängen auch eine Stauung der Muttersubstanz in den Zellen einträte, andererseits konnte gerade durch das Saugen die Zelle zu intensiverer Thätigkeit angeregt werden. Die Frage war von vornherein nicht zu entscheiden. Ich werde bei jedem Versuch das angewandte Verfahren angeben: man wird sehen, dass kein besonderer Einfluss von der einen oder anderen Weise zu bemerken ist. Nach dieser Abschweifung kehre ich zu den Versuchen mit Milchdrüsenextrakt zurück: sie entsprachen in ihrer Ausführung in jeder Beziehung, auch in Bezug auf die Menge der angewandten Substanz (20 ccm) den Digestionsversuchen mit reiner Milch.

Versuche IV und V.

IV. Hündin. Junge, 5 Tage alt, 12 h. abgesperrt.	Reduktions-Vermögen des Milchdrüsenextraktes		V. Kaninchen. Junge, wenige Tage alt, 12 h. abgesperrt.	Reduktions-Vermögen des Milchdrüsenextraktes.	
	Frisch untersucht	4 h. digerirt		Frisch untersucht	4 h. digerirt
1. Bestimmung	34,7	32,7	1. Bestimmung	46,7	48,0
2. Bestimmung	39,3	38,5	2. Bestimmung	49,0	47,7
Mittel	**37,0**	**35,6**	Mittel	**47,8**	**47,8**

Keine Zunahme des Reduktionsvermögens! Der Grund hierfür konnte, wie bei den entsprechenden Milchdigestionsversuchen, ein Fehlen des Ferments, der Muttersubstanz oder des Fermentes und der Muttersubstanz sein.

Aber auch ein Versuch, in dem das Milchdrüsenextrakt (20 ccm) mit einem Milchdrüsendekokt (20 ccm) (desselben Thieres), das ja vielleicht die Mutlersubstanz enthielt, digerirt wurde, fiel negativ aus. Die Ausführung entsprach vollständig der des Versuches III; ich benutzte die Hundemilchdrüse.

Versuch VI.

VI. Hündin. Junge, 5 Tage alt, 12 h. abgesperrt.	Reduktions-Vermögen des Milchdrüsenextrakts und des Milchdrüsendekokts.	
	4 h. getrennt digerirt	4 h. zusammen digerirt
1. Bestimmung	118	120.
2. Bestimmung	112	111
Mittel	**115**	**115**

Der folgende Versuch brachte mich weiter. Es war in der angegebenen Weise ein Milchdrüsenextrakt hergestellt worden, nur zufällig durch ein grobmaschiges Tuch kolirt, so dass geformte Drüsenbestandtheile mit durchgegangen waren. Der Versuch wurde im Uebrigen in der bekannten Weise angestellt; nur konnte man von der nicht homogenen Flüssigkeit natürlich nicht mit der Pipette gleiche Theile abmessen, sondern musste sie unter fortwährendem Umschütteln in gewogene Gefässe vertheilen und dann das Gewicht der einzelnen Portionen durch die Waage feststellen.

Die Zahlen bezeichnen in diesem Versuch die ccm Kupferlösung, die durch 100 g der benutzten Substanz reducirt werden.

Versuch VII.

VII. Kaninchen. Junge, wenige Tage alt, 12 h. abgesperrt.	Reduktions-Vermögen des Milchdrüsenextrakts, das zellige Bestandtheile enthält.	
	Frisch untersucht	4 h. digerirt
1. Bestimmung	130	154
2. Bestimmung	138	142
Mittel	**134**	**148**

Die Zunahme des Reduktionsvermögens war allerdings nur gering, aber doch deutlich. Es ergab sich daraus, dass die Drüsenzelle nöthig war; jedenfalls mussten weitere Versuche mit der Drüsensubstanz selbst angestellt werden. Hier traten zunächst technische Schwierigkeiten entgegen. Es erschien von vornherein fraglich, ob sich aus der mit Bindegewebe, Gefässen und Fett durchwachsenen Drüse ein Brei darstellen liesse, der genügend gleichmässig wäre, etwaige geringe Unterschiede, wie sie vielleicht bei der Digestion entstehen würden, als solche deutlich erkennen zu lassen. Der Erfolg musste entscheiden. Ich verwandte Kaninchen, die sich wegen des geringen Bindegewebe- und Fettgehaltes ihrer Drüse besonders gut eignen, ausserdem Hunde. Das Verfahren bestand wesentlich in folgendem: Nachdem das Thier entblutet und mit verdünnter Kochsalzlösung genügend ausgewaschen war, wurde die Drüse so sorgfältig als möglich, mit Zurücklassung der fest anhaftenden Muskelbündel, herauspräparirt, mit Kochsalzlösung abgespült, abgetrocknet und in einem eiskalt gehaltenen Gefässe mit einer Scheere zu einem ganz feinen Brei zerschnitten. In der Feinheit und Gleichmässigkeit dieses Breies lag der Schwerpunkt des Versuches. Von diesem Brei wurden ungefähr gleiche Theile in gewogene Kolben gebracht, und zwar mittelst eines Trichters, um ein etwaiges Hängenbleiben von Substanz an den Wänden

zu vermeiden. Das Gewicht der einzelnen Portionen wurde durch Wiegen festgestellt. Nachdem dann, um den Brei dünner zu machen und ein Eintrocknen während der Digestion zu vermeiden, den einzelnen Portionen nach Verhältniss ihres Gewichts Kochsalzlösung resp. Blutserum (von derselben Thierart) zugefügt und durch vorsichtiges Umschütteln mit der Drüsensubstanz gut gemischt war, wurden sie in das Wasserbad zum Digeriren resp. auf Eis gestellt, um später mit kochendem Wasser verdünnt und durch Kochen bei Zusatz von verdünnter Essigsäure eiweissfrei gemacht zu werden. Das Kochen wurde in der Regel 2 Stunden fortgesetzt, um sicher zu sein, dass aller Milchzucker in die Flüssigkeit übergegangen sei; allerdings hatte man dadurch den Nachtheil, viel Leim mit in Kauf nehmen zu müssen. Bei Kaninchen ging die Ausfällung der Eiweisskörper fast stets gut von Statten, so dass die Filtrate der wiedergewogenen Flüssigkeiten wasserklar waren. Beim Hunde wurde dieses Resultat aber niemals erreicht: es blieb stets eine Trübung in Folge suspendirten Fettes zurück. Das Serum wurde durch Centrifugiren gewonnen, und zwar wurde das Blut direkt aus der Arterie in die Gefässe gelassen, in denen es, nachdem es geronnen und der Blutkuchen vorsichtig an den Rändern gelöst war, auch centrifugirt wurde.

Die angeführten Zahlen bezeichnen von jetzt an stets die ccm Kupferlösung, die durch 100 g Drüsensubstanz reducirt werden.

Versuche VIII bis XIV.

VIII. Kaninchen. Junge, wenige Tage alt, 12 h. abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse. Frisch untersucht	4 h. mit NaCl-Lösung digerirt
1. Bestimmung	297	322
2. Bestimmung	306	328
3. Bestimmung	308	332
Mittel	**304**	**327**

IX. Kaninchen. Junge vor 3 Tagen gleich nach der Geburt getödtet.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse. Frisch untersucht	3 h. mit NaCl-Lösung digerirt
1. Bestimmung	115	138
2. Bestimmung	125	145
Mittel	**120**	**142**

X. Hündin. Junge, 5 Tage alt, nicht abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse. Frisch untersucht	3 h. mit NaCl-Lösung digerirt
1. Bestimmung	270	292
2. Bestimmung	282	298
Mittel	**276**	**295**

XI. Hündin. Junge, 1 Tag alt, nicht abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse. Frisch untersucht	3 h. mit NaCl-Lösung digerirt
1. Bestimmung	332	359
2. Bestimmung	342	382
Mittel	**337**	**371**

XII. Hündin. Junge, wenige Tage alt, 12 h. abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse. Frisch untersucht	3 h. mit Serum digerirt
1. Bestimmung	546	507
2. Bestimmung	539	514
Mittel	**542**	**510**

XIII. Hündin. Junge, wenige Tage alt, 36 h. abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse. Frisch untersucht	3 h. mit Serum digerirt
1. Bestimmung	381	306
2. Bestimmung	381	325
Mittel	**381**	**315**

XIV. Kaninchen. Junge, 9 Tage alt, 12 h. abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse. Frisch untersucht	3 h. mit Serum digerirt
1. Bestimmung	332	400
2. Bestimmung	335	400
Mittel	**333**	**400**

Die angeführten Zahlen sprechen einmal für die Brauchbarkeit des angewandten Verfahrens und sind zugleich eine Bestätigung des letzten Versuches (VII). Es ist in der That in 5 der angeführten Versuche während der Digestion eine deutliche Zunahme des Reduktionsvermögens eingetreten. Zwei (XII und XIII) geben allerdings gerade umgekehrte Resultate, und zwar sind das die beiden, in denen Hundemilchdrüse und Hundeblutserum benutzt wurden. Sie haben aber um so weniger zu bedeuten, als ich eine, wie ich glaube, genügende Erklärung für das abweichende Verhalten geben kann; ich komme später darauf zurück. Es drängt sich

jetzt zunächst die Frage auf, wie man sich den bei der Digestion verlaufenden Prozess zu denken hat. Ist der Stoff, der die Zunahme des Reduktionsvermögens bewirkt, neugebildeter Milchzucker, oder ein anderer neuentstandener, mit reducirender Kraft begabter Körper, oder hat man sich gar zu denken; dass der schon vorhandene Milchzucker in einen Körper mit grösserer Reduktionskraft übergeführt wurde? Den letzterwähnten Vorgang kann man als zu unwahrscheinlich ausschliessen. Ob aber der neugebildete Stoff Milchzucker oder irgend ein anderer reducirender Körper ist, wird sich schwer, vielleicht durch mit verdünnter Schwefelsäure angestellte Invertirungsversuche entscheiden lassen; von diesen, die ich auch angestellt habe, werde ich später berichten; indessen bin ich dabei, wie ich hier gleich voraufschicken will, zu keinem Resultat gekommen. So lange keine Beweise für eine andere Erklärung beigebracht werden können, wird man die natürlichste und nächstliegende unterstellen, nämlich die, dass unter den günstigen Bedingungen der Digestion aus einer Muttersubstanz Milchzucker gebildet wird. Ueber die geringe Menge der neugebildeten Substanz wird man sich nicht wundern können. Es ist natürlich, dass in einem Organ, in dem der Stoffwechsel ein so reger ist, wie in der Milchdrüse, in der Zeiteinheit sich nur wenig umzuwandelnde Substanz vorfindet.

Meine nächste Aufgabe war nun, die angenommene Muttersubstanz zu isoliren. Aus dem negativen Ausfall der Versuche III und VI, in denen ich Milch resp. Milchdrüsenextrakt mit Milchdrüsendekokt digerirte, ging natürlich nicht hervor, dass das Milchdrüsendekokt keine Muttersubstanz enthalte. Es konnte ja, wie schon mehrfach erwähnt, auch an einem Mangel an Ferment gelegen haben. Nach den jetzigen Erfahrungen musste sich dies durch Digestion von Milchdrüsensubstanz mit Milchdrüsendekokt entscheiden lassen. Die technische Ausführung der Versuche geschah in der bekannten Weise:

eine Portion Milchdrüsenbrei wurde zusammen mit dem Dekokt digerirt, die andere, mit Kochsalzlösung digerirt, erhielt ihre entsprechende Menge Dekokt erst nachher.

Zur Darstellung des Drüsenbreies und des Dekokts verwandte ich natürlich immer die Milchdrüse desselben Thieres (Kaninchen oder Hund) u. z. wurden zum Dekokt ein Drittel, zum Brei zwei Drittel der Drüse benutzt.

Versuche XV bis XIX.

XV. Hündin. Junge, wenige Tage alt, 36 h abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse und des Milchdrüsendekokts. 3 h. getrennt digerirt	3 h. zusammen digerirt	XVI. Hündin. Junge, wenige Tage alt, nicht abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse und des Milchdrüsendekokts. 3½ h. getrennt digerirt	3½ h. zusammen digerirt
1. Bestimmung	575	606	1. Bestimmung	479	513
2. Bestimmung	580	614	2. Bestimmung	504	missglückt
Mittel	**577**	**610**	Mittel	**491**	**513**

XVII. Kaninchen. Junge wenige Tage alt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse und des Milchdrüsendekokts. 3½ h. getrennt digerirt	3½ h. zusammen digerirt	XVIII. Kaninchen. Junge, vor 2 Tagen geboren, sofort getödtet.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse und des Milchdrüsendekokts. 3 h. getrennt digerirt	3 h. zusammen digerirt
1. Bestimmung	526	587	1. Bestimmung	381	414
2. Bestimmung	557	622	2. Bestimmung	386	428
Mittel	**541**	**604**	Mittel	**383**	**421**

XIX. Kaninchen. Junge, 4 Wochen alt, nicht abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse und des Milchdrüsendekokts. 3 h. getrennt digerirt	3 h. zusammen digerirt
1. Bestimmung	214	233
2. Bestimmung	219	235
Mittel	**216**	**234**

Mit Berücksichtigung des Ausfalles dieser Versuche kann man sich dahin aussprechen, dass ein an die Zelle gebundenes Ferment einen Körper, der in Wasser löslich ist und durch Kochen nicht zerstört wird, unter günstigen Bedingungen in einen reducirenden Stoff, vielleicht in Milchzucker überführt.

Um nun die Muttersubstanz weiter zu isoliren, behandelte ich ein aus Kuhmilchdrüse hergestelltes Dekokt weiter nach dem Prinzip, wie es zur Darstellung des Glykogens angegeben ist: Es wurde auf dem Wasserbade etwas eingedampft, dann wiederholt mit absolutem Alkohol gefällt und zuletzt der abfiltrirte Niederschlag zur Entfernung des Fettes mit Aether extrahirt.

Auf diese Weise erhielt ich eine trockene, weisse Substanz, die sich in der Reibschale zu einem feinen, in Wasser löslichen Pulver zerreiben liess. Mit dieser Lösung stellte ich einen Versuch an; natürlich wurde der zu benutzende Brei aus Kuhmilchdrüse hergestellt.

Versuch XX.

XX. Kuh.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse und des aus der Milchdrüse dargestellten Körpers.	
	3 h. getrennt digerirt	3 h. zusammen digerirt
1. Bestimmung	358	389
2. Bestimmung	371	407
Mittel	**364**	**398**

Der erhaltene Körper enthielt also die Muttersubstanz. Leider konnte eine weitere Isolirung, besonders eine Entfernung des in reichlicher Menge vorhandenen Leimes wegen der geringen Menge des Materials nicht versucht werden. Der Rest genügte gerade noch, zu prüfen, ob die fragliche Substanz durch das Ferment des Speichels verändert würde. Indessen fiel dieser Versuch, ebenso wie ein anderer, der mit Speichel und Hundemilchdrüsendekokt angestellt wurde, negativ aus. Es ist dies eine Bestätigung der oben mitgetheilten Angabe von O. Nasse[19]).

Glykogen ist demnach die fragliche Muttersubstanz nicht. Das ist aber auch das Einzige, was man bis jetzt zu ihrer Charakteristik anführen kann. Um mehr zu erfahren, muss man die Isolirung weiter fortsetzen, als mir es möglich war. Dazu ist es aber nöthig, dass man ungleich grössere Drüsenmengen in Behandlung nimmt, zumal eine möglichst vollständige Erschöpfung des Gehalts der Milchdrüse an Muttersubstanz durch länger fortgesetztes Kochen wegen des dabei stattfindenden Uebergangs von Leim in die Flüssigkeit nicht erlaubt ist.

Ich füge jetzt den schon erwähnten Invertirungsversuch an, dessen Zweck war, festzustellen, ob die Zunahme des Reduktions-Vermögens durch neugebildeten Milchzucker bedingt sei. Ich ging dabei von folgender Betrachtung aus: Milchzucker wird bekanntlich durch Kochen mit Schwefelsäure in Körper mit höherem Reductionsvermögen verwandelt. Für reine Milchzuckerlösung, die ich 4 Stunden mit 1 % Schwefelsäure in Druckgefässen kochte, hatte ich diese Zunahme zu 33 % gefunden. Bestimmte ich also das Reduktionsvermögen eines in der bekannten Weise aus digerirtem Milchdrüsenbrei hergestellten Filtrates vor und nach vierstündigem Kochen mit Schwefelsäure, so musste auch eine Zunahme von 33 % sich zeigen, wenn die gesammte Muttersubstanz in Milchzucker übergeführt war. Ein Rest durch die Digestion nicht veränderter Muttersubstanz konnte und würde wahrscheinlich durch Kochen mit Schwefelsäure auch in irgend einen reducirenden Körper verwandelt werden und so den Versuch stören. Ein positives Resultat, d. h. eine Zunahme von 33 % würde also für, ein negatives nicht gegen eine Milchzuckerbildung sprechen. Folgendes sind die Mittel der in der bekannten Weise erhaltenen Resultate vor und nach der Inversion:

vor der Inversion 370
nach . . . . . 594 } Zunahme 60,5 %.

Die Zunahme ist eine ganz andere, und zwar eine

grössere. Man kann also auf diesem Wege der Sache nicht näher kommen; nur das kann man aus dem erhaltenen Werthe schliessen, dass ein Theil der Muttersubstanz durch die Digestion nicht verändert, jedenfalls in einen reducirenden Körper erst durch das Kochen mit Schwefelsäure verwandelt wird.

Auch zur Entscheidung dieser Frage ist die weitere Isolirung der Muttersubstanz und des Fermentes eine unerlässliche Vorbedingung.

Ich habe jetzt über einige Versuche zu berichten, die allerdings in ein ganz anderes Gebiet hinüberführen. Die Betrachtung, in Folge deren ich sie anstellte, schliesst sich aber an die Ergebnisse der früheren Versuche an. Darüber, dass der Körper, dem die bisher gefundene Zunahme des Reduktionsvermögens zuzuschreiben ist, durch eine fermentative Spaltung seiner Muttersubstanz entstand, konnte natürlich kein Zweifel sein. Es frug sich aber, ob nicht auch synthetische Prozesse im Verlauf der Bildung des Milchzuckers eine Rolle spielen, ob nicht speciell der bis jetzt als „Muttersubstanz" bezeichnete Körper seine Entstehung einer Synthese verdanke. Es schien der Mühe werth, dieser Frage weiter nachzugehen. Nachdem in letzter Zeit eine Reihe regelmässig im Organismus zu Stande kommender Synthesen bekannt geworden, hat man sie ausserhalb des Körpers an überlebenden Organen weiter studirt. Bunge & Schmiedeberg[25]) waren die Ersten, denen es gelang durch Durchleiten defibrinirten Blutes, das mit Benzoësäure und Glykokoll versetzt war, durch die Gefässe der Hundeniere Hippursäure zu erhalten. Es folgten bald Bestätigungen und weitere Angaben. Kochs[26]) wies nach, dass die Synthese auch eintrat, wenn man die Niere, fein zerkleinert, mit benzoësäure- und glykokollhaltigem Blut im Luftstrom digerirt, auch schon bei gewöhnlicher Temperatur unter häufigem Umschütteln. Nach

vollständigem Zermalmen der Drüse, wodurch die Zellen getödtet wurden, bildete sich keine Hippursäure mehr, ebenso auch nicht, wenn das Nierengewebe durch mit Chinin versetztes Blut vergiftet war (Hoffmann [27]) oder wenn man den Versuch anstellte, nachdem die Drüsen längere Zeit (2 Stunden) einer Temperatur von — 20 ° C. ausgesetzt waren (Kochs [26]). Der Prozess war also an die lebende Zelle gebunden. Aus den Untersuchungen von Bunge & Schmiedeberg [25]) ging weiter hervor, dass bei der Bildung der Hippursäure die Blutkörperchen eine wesentliche Rolle spielten, denn machten sie ihre Durchleitungsversuche statt mit Blut mit 2 % Kochsalzlösung oder mit Blutserum (derselben oder einer anderen Thierart), so fanden sich gar keine oder so geringe Spuren von Hippursäure, dass sie durch das im Organ zurückgebliebene Blut erklärt werden konnten. Auch Hoffmann [27]) konnte, wenn er zu seinen Versuchen Kohlenoxyd-Blut verwandte, keine Hippursäure nachweisen, war aber nicht im Stande zu entscheiden, ob die Ursache in dem Mangel an Sauerstoff oder in einer durch das Kohlenoxyd bedingten Schädigung des Gewebes zu suchen sei. Auch über die Synthese der gepaarten Schwefelsäuren sind in ähnlicher Weise Versuche angestellt worden (Kochs [27], [28]). Aus Allem geht hervor, dass der Prozess unter dem Einfluss der lebenden Zelle und des Blutes verläuft.

Es war also jedenfalls der Versuch zu machen, ob man durch Digestion des in der bekannten Weise hergestellten Milchdrüsenbreies mit Blut eine grössere Zunahme des Reduktionsvermögens erhielt, als durch Digestion des Drüsenbreies etwa mit Kochsalzlösung oder Blutserum. Die Ausführung der Versuche, die ich mit Milchdrüsen von Kaninchen und Kühen und dem Blut von Kaninchen resp. Kühen anstellte, geschah in der bekannten Weise. Während der Digestion wurde dem Inhalt der einzelnen Gefässe durch Umschütteln häufig Sauerstoff zugeführt.

Versuche XXI bis XXIV.

XXI. Kaninchen. Junge, 4 Tage alt, 48 h. abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse	
	2 h. mit NaCl-Lösung digerirt	2 h. mit Blut digerirt
1. Bestimmung	591	497
2. Bestimmung	630	500
Mittel	**610**	**498**

XXII. Kaninchen. Junge, 3 Tage alt, nicht abgesperrt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse.	
	3 h. mit NaCl-Lösung digerirt	3 h mit Blut digerirt
1. Bestimmung	363	319
2. Bestimmung	377	331
Mittel	**370**	**325**

XXIII. Kaninchen. Junge 3 Tage alt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse.	
	$3^1/_2$ h. mit NaCl-Lösung digerirt	$3^1/_2$ h. mit Blut digerirt
1. Bestimmung	383	286
2. Bestimmung	380	294
Mittel	**381**	**290**

XXIV. Kuh.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse.	
	3 h. mit NaCl-Lösung digerirt	3 h. mit Blut digerirt
1. Bestimmung	435	389
2. Bestimmung	434	missglückt
Mittel	**434**	**389**

Statt der gehofften Zunahme fand sich eine bedeutende Abnahme des Reduktionsvermögens: es war jedenfalls eine Oxydation eingetreten. Ich dachte zunächst daran, dass vielleicht nur der während der Digestion neu gebildete reducirende Körper von der Oxydation betroffen sei, indessen wenn diese Auffassung richtig wäre, dürfte die Abnahme des Reduktionsvermögens während der Digestion mit Blut nicht mehr betragen, wie die Zunahme desselben bei den früheren Digestionsversuchen mit Kochsalzlösung. Die Abnahme ist aber in der That mehr wie doppelt so gross, als die früher gefundene Zunahme. Es muss also auch der vorhandene Milchzucker oxydirt sein. Einer solchen Annahme widerspricht keine bis jetzt bekannte Thatsache. Was wir von hierher Gehörigem wissen, ist Folgendes. Nencki & Sieber[29]) haben gezeigt, dass Traubenzucker und Milchzucker in stark alkalischer Lösung bei Bruttemperatur zersetzt werden, dass aber bei einer so geringen Alkaleszenz der Lösung, wie sie etwa das

Blut zeigt, erst nach einer Digestion von 15 Tagen — Bakterienwirkung war dabei ausgeschlossen — ein Sauerstoff-Verbrauch nachgewiesen werden konnte. Ein positives Resultat nach so langer Zeit ist für uns so gut, wie ein negatives. Damit stimmt überein die Angabe von Hoppe-Seyler[30]), dass er beim abwechselnden Durchleiten von Sauerstoff und Kohlensäure durch defibrinirtes Blut oder wässerige Lösung von reinem Oxyhaemoglobin, die mit Traubenzucker versetzt waren, keine Abnahme des Zuckers habe konstatiren können. Dass auch eine wässerige Lösung von der Alkaleszenz des Blutes zusammen mit lebendem Gewebe (Milchdrüse) bei Körpertemperatur nicht oxydirend wirkt, haben meine Versuche gezeigt, in denen beim Digeriren von Milchdrüse mit Blutserum eine Zunahme des Reduktionsvermögens eintrat. In dem Falle, um den es sich jetzt handelt, haben wir aber ausser der alkalischen Lösung und dem Gewebe noch einen Ueberfluss an Sauerstoff; und vom Benzylalkohol und Salicylaldehyd weiss man durch Schmiedeberg[31]), dass sie bei Anwesenheit von sauerstoffhaltigem Blut und dem Gewebe (der Niere und Lunge) bei Körpertemperatur energisch oxydirt werden. Allerdings findet für den Benzylalkohol eine Oxydation auch schon durch Blut und alkalische Lösung statt, indessen ist sie wenigstens 1000-fach geringer und erfordert auch längere Zeit.

Eine Vermehrung des Milchzuckergehaltes der Milchdrüse durch Zusatz einer 0,2 % Milchzuckerlösung hatte keinen Einfluss auf den Oxydationsprozess, ein Beweis, dass in unseren Versuchen mehr Milchzucker vorhanden war, als oxydirt werden konnte. Die Ausführung des Versuchs (XXV) war diese: eine Portion Drüsenbrei wurde mit Blut und Milchzuckerlösung, eine zweite mit Blut und Kochsalzlösung, eine dritte mit Milchzuckerlösung und Kochsalzlösung, natürlich immer im Verhältniss zum Gewicht, versetzt. Nachdem dann einige (3) Stunden digerirt war, erhielten die einzelnen Portionen, ehe sie in bekannter

Weise weiter behandelt wurden, das ihnen noch Fehlende: Kochsalzlösung resp. Milchzuckerlösung resp. Blut.

Versuch XXV.

XXV. Kaninchen.	Reduktions-Vermögen		
	nach Digestion der Milchdrüse mit Blut und Milchzuckerlösung (nachträglicher Zusatz von Kochsalzlösung)	nach Digestion der Milchdrüse mit Blut und Kochsalzlösung (nachträglicher Zusatz von Milchzuckerlösung)	nach Digestion der Milchdrüse mit Milchzuckerlösung und Kochsalzlösung (nachträglicher Zusatz von Blut)
1. Bestimmung	255	241	355
2. Bestimmung	missglückt	212	345
Mittel	**255**	**226**	**350**

Es lag nahe, im Anschluss hieran zu untersuchen, ob auch bei Digestion anderer Gewebe mit Blut eine Oxydation des Zuckers einträte. Ein Versuch, den ich zu diesem Zwecke mit einem aus den musc. adduct. fem. eines Kaninchens hergestellten Brei, Blut und 0,2 % Milchzuckerlösung anstellte, lieferte ein negatives Resultat.

Versuch XXVI.

XXVI. Kaninchen.	Reduktions-Vermögen		
	nach Digestion des Muskels mit Blut und Milchzuckerlösung (nachträglicher Zusatz von Kochsalzlösung)	nach Digestion des Muskels mit Blut und NaCl-Lösung (nachträglicher Zusatz von Milchzuckerlösung)	nach Digestion des Muskels mit Milchzuckerlösung und NaCl-Lösung (nachträglicher Zusatz von Blut)
1. Bestimmung	250	263	257
2. Bestimmung	257	274	276
Mittel	**254**	**269**	**267**

Es wurden also weder die eigenen noch die zugeführten Kohlehydrate oxydirt.

Für mich hatten aber diese Versuche noch einen anderen Werth: sie gaben mir eine Erklärung für das auffallende Resultat bei der Digestion von Hundemilchdrüse

mit Hundeblutserum (Versuch XII u. XIII). Es ist mir höchst wahrscheinlich, dass das in jenen Versuchen benutzte Serum nicht frei von Blutkörperchen oder Haemoglobin gewesen ist und dass dadurch ein Theil des Milchzuckers oxydirt wurde. Spuren von Blut sind allerdings nicht im Stande eine nachweisbare Oxydation zu bewirken; wenigstens scheint das aus folgenden Versuchen hervorzugehen, in denen ich 2 Portionen Drüsenbrei (Kuh, Kaninchen) wie gewöhnlich mit Kochsalzlösung resp. reinem Blut digerirte, ausserdem aber noch eine dritte, mit Kochsalzlösung, der 16,4 % (Vers. XXVII) resp. 1,1 % (Vers. XXVIII) des Gewichts der Drüsensubstanz an Blut zugefügt war.

Versuche XXVII und XXVIII.

XXVII. Kaninchen. Junge 3 Tage alt.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse.		
	3½ h. mit NaCl-Lösung digerirt	3½ h. mit NaCl-Lösung, der ein wenig Blut zugesetzt war, digerirt	3½ h. mit Blut digerirt
1. Bestimmung	383	371	286
2. Bestimmung	380	400	294
Mittel	**381**	**385**	**290**

XXVIII. Kuh.	Reduktions-Vermögen der Milchdrüse.		
	3 h. mit NaCl-Lösung digerirt	3 h. mit NaCl-Lösung, der ein wenig Blut zugesetzt war, digerirt	3 h. mit Blut digerirt
1. Bestimmung	435	426	389
2. Bestimmung	434	missglückt	missglückt
Mittel	**434**	**426**	**389**

Die Frage nach den bei der Milchzuckerbildung etwa stattfindenden Synthesen ist, um nach dieser langen Abschweifung noch einmal auf den Ausgangspunkt zurückzukehren, durch die Versuche nicht beantwortet, im Gegentheil, es hat sich herausgestellt, dass man wenigstens auf dem eingeschlagenen Wege der Sache nicht näher kommen kann.

Im Folgenden werde ich über einige Untersuchungen referiren, die ich über das Caseïn anstellte. Ich war gerade damit beschäftigt, die Kemmerich'schen [10]) Arbeiten zu wiederholen, als die besprochenen Mittheilungen von Schmidt-Mülheim [15]) erschienen. Wenn ich nun auch nichts wesentlich Neues hinzuzufügen habe, so will ich doch meine wenigen Versuche anführen; sie mögen als Bestätigung und, da ich Gelegenheit hatte, auch mit Colostrum zu arbeiten, auch als Ergänzung der Arbeiten von Schmidt-Mülheim dienen. Die Ausführung geschah im Wesentlichen nach der von Hoppe-Seyler angegebenen Vorschrift, nur in zwei Punkten wich sie etwas ab. Die letzten Caseïnpartikelchen wurden nicht mit destillirtem Wasser auf das Filter gespült, sondern mit dem Filtrat, auch wurde nicht mit Wasser ausgewaschen, da sich bei seiner Anwendung stets die filtrirende Flüssigkeit trübte, wie das auch schon von Schmidt-Mülheim angegeben ist. Um das Fett möglichst vollständig und schnell zu entfernen, brachte ich die den Niederschlag einschliessenden Filter nicht gleich in den Extraktionsapparat, sondern liess sie vorher einige Zeit in absolutem Alkohol liegen. Nach manchem Hin- und Herversuchen schien mir diese Methode die besten Resultate zu liefern.

Albuminbestimmungen wurden nicht ausgeführt.

Versuch XXIX.

Kuhmilch, letzte Portion, direkt aus dem Euter in ein mit Eisstückchen umgebenes Gefäss aufgefangen. 20 ccm

der Milch wurden frisch analysirt, 20 ccm erst nach der Digestion. Doppelversuch.

XXIX.	Caseïngehalt der Kuhmilch.	
	Frisch untersucht	7 h. digerirt
1. Bestimmung	0,67	0,65
2. Bestimmung	0,66	0,64
Mittel	0,665	0,645
%	**3,325**	**3,225**

Versuch XXX.

Frauencolostrum. Aus den Brüsten von 3 Frauen in den letzten Monaten der Schwangerschaft wurde das Sekret direct in ein mit Eis umgebenes Gefäss ausgedrückt. Die so gewonnenen 6,5 ccm wurden mit Wasser auf 100 ccm verdünnt und von dieser Mischung je 20 ccm benutzt. Nach Behandlung mit Essigsäure und Kohlensäure und längerem ruhigen Stehen zeigten die beiden 5 Stunden digerirten nur leichte unwägbare Trübungen, während bei denen, die sofort in Behandlung genommen waren, sich ein deutlicher Bodensatz gebildet hatte.

Versuch XXXI.

Frauencolostrum. Aus den Brüsten derselben drei Schwangeren wurde 2 Tage später in derselben Weise das Sekret gewonnen. Dieses Mal erhielt ich 15 ccm, die ich auf 26 ccm verdünnte. Zu den einzelnen Versuchen benutzte ich je 5 ccm dieser Mischung. Doppelversuch.

XXXI.	Caseïngehalt des Frauencolostrum.	
	Frisch untersucht	6 h. digerirt
1. Bestimmung	0,09	0,05
2. Bestimmung	0,05	0,046
Mittel	0,07	0,048
%	**2,41**	**1,655**

Versuch XXXII.

Kuhcolostrum. Es wurde 24 Stunden nach dem Kalben direkt aus dem Euter in ein mit Eis umgebenes Gefäss aufgefangen und stellte eine dickliche, gelbe Flüssigkeit dar. Zu den einzelnen Versuchen nahm ich 20 ccm. Doppelversuch.

XXXII.	Caseïngehalt des Kuhcolostrum.	
	Frisch untersucht	4½ h. digerirt
1. Bestimmung	0,68	0,67
2. Bestimmung	0,69	0,67
Mittel	0,685	0,67
%	**3,425**	**3,35**

Also auch das Colostrum mit seinem reichen Albumingehalt, in dem Kemmerich[32]) die Caseïnbildung besonders reichlich gefunden hatte, verhielt sich wie die Milch und büsste von seinem Caseïn während der Digestion ein. Enthielt nun die Milch kein Ferment, das im Stande ist, Albumin in Caseïn überzuführen? Das kann man aus den bisherigen Ergebnissen noch nicht ohne Weiteres schliessen. Es ist möglich, dass der Eiweissbestandtheil der Milch, den man Albumin nennt und der in der fertigen Milch in geringer Menge, verhältnissmässig reichlich im Colostrum sich findet, nicht identisch ist mit dem Albumin des Blutserum, sondern auf seinem Wege vom Blute bis in das Sekret der Milchdrüse Veränderungen erlitten hat, die ihn zu einer Umwandlung in Caseïn ungeeignet machen. Es war also zu prüfen, ob bei Digestion einer Milch, der Blutserum (derselben Thierart) zugesetzt war, eine Caseïnbildung einträte. Auch Kemmerich hatte, wie schon erwähnt, einen solchen Versuch gemacht, ohne eine Neubildung von Caseïn gefunden zu

haben. Indessen darf man auf dies Resultat keinen Werth legen, seitdem die Ergebnisse seiner übrigen Digestions-Versuche durch Schmidt-Mülheim als falsch erwiesen sind. Ausserdem stammte Blutserum und Milch, die er zusammen digerirte, auch nicht von derselben Thierart.

Versuch XXXIII.

Kuhmilch, letzte Portion, direkt in ein mit Eis umgebenes Gefäss aufgefangen. Je 20 ccm derselben wurden mit je 10 ccm Rinderblutserum digerirt resp. unmittelbar nach der Vereinigung analysirt. Doppelversuch.

XXXIII.	Caseïngehalt der Kuhmilch.	
	Frisch untersucht	4 h. digerirt
1. Bestimmung	0,725	0,760
2. Bestimmung	0,740	0,760
Mittel	0,732	0,760
%	**3,66**	**3,80**

Versuch XXXIV.

Kuhmilch, letzte Portion, direkt in ein mit Eis umgebenes Gefäss aufgefangen. Sie wurde mit Rinderblutserum im Verhältniss von 18 : 7 versetzt. Von der Mischung wurden 20 ccm digerirt, 20 sofort analysirt. Doppelversuch.

XXXIV.	Caseïngehalt der Kuhmilch.	
	Frisch untersucht	3½ h. digerirt
1. Bestimmung	0,54	0,55
2. Bestimmung	0,54	0,57
Mittel	0,54	0,56
%	**3,75**	**3,89**

Ausserdem habe ich noch einige Bestimmungen gemacht, die allerdings nur geringen Werth haben, da ihnen die Kontrolle des Doppelversuchs fehlt.

Versuch XXXV.

Kuhmilch, letzte Portion, in ein mit Eis umgebenes Gefäss aufgefangen. Es wurden 15 ccm der Milch und 10 ccm Rinderblutserum einmal zusammen digerirt und einmal erst nach getrennter Digestion vereinigt.

XXXV.	Caseïngehalt der Kuhmilch und des Rinderblutserum.	
	5 h. getrennt digerirt	5 h. zusammen digerirt
	0,72	0,79
%	**4,8**	**5,26**

Versuch XXXVI.

Kuhmilch. Ausführung des Versuchs ebenso, wie die des vorigen.

XXXVI.	Caseïngehalt von Kuhmilch und Rinderblutserum.	
	3 h. getrennt digerirt	3 h. zusammen digerirt
	0,56	0,65
%	**3,73**	**4,33**

Versuch XXXVII.

Kuhmilch, letzte Portion, direkt in ein mit Eis umgebenes Gefäss aufgefangen. Sie wurde mit Rinderblutserum versetzt im Verhältniss von 7 : 3. Es wurden je 30 ccm der Mischung benutzt.

XXXVII.	Caseïngehalt von Kuhmilch und Rinderblutserum.	
	Frisch untersucht	5 h. digerirt
	0,72	0,81
%	**3,43**	**3,86**

Es scheint in der That aus diesen Versuchen hervorzugehen, dass in die Milch ein Ferment übergeht, das im Stande ist, aus Serumalbumin Caseïn zu bilden, das aber in der Milch wegen Mangel an geeignetem Umwandlungsmaterial seine Wirksamkeit nicht entfalten kann. Führt man der Milch solches zu, so tritt das Ferment in Thätigkeit. Daneben kann ja immer eine Neubildung von Pepton auf Kosten des Caseïn stattfinden; der Verlust, den die Milch dadurch an Caseïn erleidet, ist aber jedenfalls geringer, als der Zuwachs, der ihr aus dem Albumin erwächst. Wenn ich bisher von dem neugebildeten Stoffe schlechtweg als von Caseïn sprach, so war das vielleicht nicht richtig, denn dass wir es mit Caseïn und nicht mit irgend einem anderen Kalialbuminat zu thun haben, ist nur wahrscheinlich, aber nicht bewiesen. Genau genommen, dürfte man also nur von einem sich wie Caseïn verhaltenden Körper reden.

Uebrigens bedürfen diese Versuche dringend der Wiederholung, bei der besonders darauf zu achten sein wird, ob auch eine entsprechende Abnahme von Albumin zu constatiren ist.

Anschliessen hieran will ich noch einen Versuch, den ich mit Kuhmilch und Hühnereiweiss anstellte. Das Resultat war ein negatives.

Versuch XXXVIII.

Kuhmilch, letzte Portion, direkt in ein mit Eis umgebenes Gefäss aufgefangen. 20 ccm derselben und 10 ccm mit 0,6 % Kochsalzlösung starkverdünnten Hühnereiweisses wurden zusammen resp. getrennt digerirt. Doppelversuch.

XXXVIII.	Caseïngehalt von Kuhmilch und Hühnereiweiss.	
	4 h. getrennt digerirt	4 h. zusammen digerirt
1. Bestimmung	0,39	0,39
2. Bestimmung	0,40	0,40
Mittel	**0,395**	**0,395**

Nach diesen Erfahrungen war es eigentlich nicht mehr nöthig, zu prüfen, ob bei der Digestion der Milchdrüse selbst eine Neubildung von Caseïn einträte und ob diese durch Zusatz von Serumalbumin noch vergrössert werden könnte. Indessen einmal schienen mir meine wenigen Versuche nicht genügend, eine so wichtige Frage zu entscheiden, und dann hielt ich es für der Mühe werth, eine Methode, die grössere Unterschiede zu liefern versprach, auf ihre Anwendbarkeit zu prüfen. Im Allgemeinen wurden diese Versuche ähnlich ausgeführt, wie diejenigen meiner Milchzuckerversuche, in denen ich die Drüse selbst benutzte.

Das, was ihr Gelingen von vornherein noch mehr in Frage stellte, lag in der Schwierigkeit, den Stoff, auf den es ankam, das Caseïn, dem Organ zu entziehen. Die Siedehitze, die bei den Milchzuckerversuchen benutzt war, wagte ich wegen der Veränderungen, die das Caseïn möglicherweise dadurch erlitt, nicht anzuwenden. Man musste hoffen, dass während längeren Stehens für genaue Analysen hinreichende Mengen Caseïn extrahirt würden. Der Einfachheit wegen suchte ich gleich durch Einen Versuch beide Fragen zu entscheiden, ob während der Digestion der Milchdrüse überhaupt Caseïn gebildet würde und ob diese Bildung durch zugefügtes Serumalbumin vermehrt werden könnte. Ich benutzte Kaninchenmilchdrüse und Kaninchenblutserum. Die Methode bestand in Folgendem: die Darstellung des Drüsenbreies und die Vertheilung in 6 gewogene Kolben geschah ganz in derselben Weise, mit derselben Sorgfalt und unter denselben Vorsichtsmassregeln, wie bei den entsprechenden Milchzuckerversuchen. Nachdem die einzelnen Gefässe gewogen, wurde 2 Portionen eine 0,6 % Kochsalzlösung, 2 Portionen Serum, natürlich immer im Verhältniss zu dem Gewicht, zugefügt und ausserdem noch in 2 Kölbchen Serum gethan, dessen Mengen dem Gewicht der mit Kochsalzlösung versetzten Portionen entsprachen. Diese sechs

Gläser wurden noch einmal gewogen und dann in ein Wasserbad von 40° C. gebracht. Die beiden noch übrigen Kolben mit Drüsenbrei wurden auf Eis gestellt, nachdem sie die entsprechenden Mengen sowohl an Kochsalzlösung als an Serum und ausserdem noch, ebenfalls nach Verhältniss ihres Gewichts, eine grössere Menge (das 20fache) Kochsalzlösung erhalten hatten. Diesen Zusatz an Kochsalzlösung machte ich schon jetzt, um den allerdings geringen Nachtheil, den diese beiden Portionen gegenüber den digerirten in Betreff des Uebergangs des Caseins aus dem Organ in die Flüssigkeit hatten, nach Kräften zu paralysiren. Nach 3 Stunden wurde die Digestion unterbrochen und die 6 Gläser kamen, nachdem sie abermals gewogen und der Verlust an Gewicht durch Kochsalzlösung ersetzt war, ebenfalls auf Eis. Hier erhielten die mit dem Serum digerirten die entsprechenden Mengen an Kochsalzlösung, die mit Kochsalzlösung digerirten das ebenfalls digerirte Serum und ausserdem alle 4 das 20fache ihres Gewichts an Kochsalzlösung. Nachdem sie, gut durchgeschüttelt, die Nacht auf Eis gestanden hatten, wurden sie filtrirt und von den einzelnen Filtraten gleiche Mengen mit der Pipette in Bechergläser gebracht. Die Pipette spülte ich jedes Mal vorher mit der abzumessenden Flüssigkeit aus. Die weitere Behandlung geschah in der bekannten Weise.

Versuch XXXIX.

XXXIX. Kaninchen. Junge, 2 Tage alt, 15 h. abgesperrt.	Caseïngehalt der Milchdrüse und des Blutserum.		
	Frisch untersucht	3 h. getrennt digerirt	3 h. zusammen digerirt
1. Bestimmung	1,57 %	1,74 %	1,90 %
2. Bestimmung	1,47 %	1,64 %	1,86 %
Mittel	**1,52 %**	**1,69 %**	**1,88 %**

Der folgende Versuch wurde ebenso angestellt, nur fiel die getrennte Digestion der Milchdrüse und des Serum aus.

Versuch XXXX.

XXXX. Kaninchen. Junge nicht abgesperrt.	Caseïngehalt der Milchdrüse und des Blutserum.	
	Frisch untersucht	3 h. digerirt
1. Bestimmung	2,25 %	2,40 %
2. Bestimmung	2,28 %	2,42 %
Mittel	**2,265** %	**2,41** %

Aus diesen beiden Versuchen geht hervor, dass bei der Digestion der Milchdrüse eine Caseïnbildung eintritt, und dass zugefügtes Serumalbumin (derselben Thierart) in Caseïn verwandelt wird.

Es ist hier der Ort, noch einmal auf die Versuche Dähnhardt's[17]) zurückzukommen. Wie oben schon erwähnt, gelang es ihm, Hühnereiweiss durch 18stündiges Digeriren mit Meerschweinchenmilchdrüse resp. einem aus derselben dargestellten Fermente und einigen Tropfen einer 10 % Lösung von kohlensaurem Natron in einen sich wie Caseïn verhaltenden Körper überzuführen. Mit diesen Angaben vermag ich das negative Resultat meines Versuches XXXVIII, in dem ich Kuhmilch mit Hühnereiweiss digerirte, nicht in Einklang zu bringen. Ob wirklich in Dähnhardt's Versuchen das Ferment der Milchdrüse, das in meinen Versuchen Serumalbumin (derselben Thierart) in Caseïn überführte, gewirkt hat? Die Angabe, dass 18 Stunden digerirt sei, hat bei mir jedenfalls den Verdacht erweckt, dass man es mit einer Bakterienwirkung zu thun hat.

In Betreff der Frage nach der Entstehung des Milchzuckers und des Caseïn ergiebt sich aus meinen Versuchen Folgendes:

A. Milchzucker.

1. Während der Digestion der Milchdrüse bei Körpertemperatur entsteht durch einen Fermentationsprozess ein mit reducirender Kraft begabter Körper, vielleicht Milchzucker.

2. Die Muttersubstanz dieses neuen Körpers ist in Wasser löslich, in Alkohol und Aether unlöslich; sie wird durch Kochen nicht zerstört; sie ist nicht identisch mit Glykogen.

3. Das Ferment geht nicht in die Milch, nicht in ein wässeriges Extrakt der Milchdrüse über, es scheint an die Drüsenzelle gebunden.

B. Caseïn.

1. Während der Digestion der Milchdrüse bei Körpertemperatur entsteht ein sich wie Caseïn verhaltender Körper, vielleicht Caseïn selbst. Zusatz von Serumalbumin derselben Thierart vermehrt die Neubildung; also ist vielleicht Serumalbumin der Stoff, aus dem in der Milchdrüse durch ein Ferment Caseïn gebildet wird.

2. In der Milch findet sich keine Substanz, die in Caseïn umgewandelt werden kann.

3. Das Ferment ist nicht an die Zelle gebunden, sondern geht in die Milch über. Zugefügtes Serumalbumin derselben Thierart wird in der Milch während der Digestion in einen sich wie Caseïn verhaltenden Körper verwandelt.

Ueber das Fett der Milch habe ich keine Versuche angestellt. Es wird jedenfalls die allergrössten Schwierigkeiten machen, über seine Entstehung Aufschluss zu erhalten. Vielleicht wird man mit der Methode, die mir besonders bei den Untersuchungen über den Milchzucker so gute Dienste geleistet hat, etwas erreichen können. Gegenüber den entsprechenden Milchzucker- und Caseïnversuchen besteht hier der grosse Uebelstand, dass man es ausser mit dem Fett der Zelle auch noch mit der ganzen Masse des ausserdem in der Drüse enthaltenen Fettes zu thun hat: je grösser die Mengen sind, die mit einander verglichen werden sollen, um so leichter werden sich kleine, bei der Digestion vielleicht auftretende Unterschiede verwischen. Unter den Milchdrüsen der verschiedenen Thiere, mit denen ich operirte, zeigte sich die Kaninchendrüse stets als die fettärmste. Sie wird also zu derartigen Versuchen besonders zu empfehlen sein.

Literatur-Verzeichniss.

[1]) Heintz, Annal. d. Chem. u. Pharmac. 88. p. 300. 1853.

[2]) Schmidt-Mülheim, Pflüger's Archiv 28. p. 251. 1882.

[3]) Dumas, Compt. rend. 21. p. 707. 1845.

[4]) Bensch, Annal. der Chem. u. Pharmac. 61. p. 221. 1847.

[5]) Ssubotin, Virchow's Archiv 36. p. 561. 1866.

[6]) Kemmerich, Centralblatt für die mediz. Wissenschaften. p. 464. 1866.

[7]) Voit, Zeitschrift für Biologie 5. p. 137. 1869.

[8]) Voit, Zeitschrift für Biologie 5. p. 124. 1869.

[9]) Hoppe, Virchow's Archiv 17. p. 449. 1859.

[10]) Kemmerich, Pflüger's Archiv 2. p. 401. 1869.

[11]) Ssubotin, Virchow's Archiv 36. p. 569. 1866.

[12]) Kemmerich, Pflüger's Archiv 2, p. 410. 1869.

[13]) Hoppe-Seyler, Physiolog. Chemie p. 754. 1881.

[14]) Zahn, Pflüger's Archiv 2. p. 608. 1869.

[15]) Schmidt-Mülheim, Pflüger's Archiv 28. p. 243, und p. 287. 1882.

[16]) Kirchner, Beiträge zur Kenntniss der Kuhmilch u. s. w. p. 48. Dresden 1877.

[17]) Dähnhardt, Pflüger's Archiv 3. p. 586. 1870.

[18]) Ritthausen, Journal für prakt. Chemie 15, p. 329. 1877.

[19]) O. Nasse, De materiis amylaceis num in sanguine mammalium inveniantur p. 24. Halle. 1866.

[20]) P. Bert, Gazette médic. de Paris. 1879. No. 2.

[21]) Brücke, Allg. Wiener mediz. Zeitung 12. 1860.

[22]) O. Nasse, Pflüger's Archiv 2. p. 102. 1869, und 11. p. 144. 1875.

[23]) O. Nasse, Pflüger's Archiv 11. p. 145. 1875.

[24]) Pavy, Chem. News 39. p. 77. 1879; citirt nach Chem. Centralblatt 1879, p. 406.

[25]) Bunge & Schmiedeberg, Archiv für experim. Patholog. 6. p. 233. 1877.

[26]) Kochs, Pflüger's Archiv 20. p. 64. 1879.

[27]) Hoffmann, Archiv für experim. Patholog. 7. p. 233. 1877.

[28]) Kochs, Pflüger's Archiv 20. p. 75. 1879, u. 23. p. 161. 1880.

[29]) Nencki & Sieber, Journ. für prakt. Chemie N. F. 24. p. 498. 1881, und 26. p. 1. 1882.

[30]) Hoppe-Seyler, Mediz.-chemische Untersuch. 1. Heft. p. 136. 1866.

[31]) Schmiedeberg, Archiv für experim. Patholog. 14. p. 288. 1881.

[32]) Kemmerich, Pflüger's Archiv 2. p. 403. Versuch IV. 1869.